

**BESTIMMUNG VON LÖSLICHEN
FIBRINMONOMERKOMPLEXEN ZUR ERFASSUNG
DER HYPERKOAGULABILITÄT IN DER
SCHWANGERSCHAFT UND UNTER DER GEBURT**

Tillmann Schneeberger

1976

Aus der I. Frauenklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. J. Zander

BESTIMMUNG VON LÖSLICHEN FIBRINMONOMERKOMPLEXEN ZUR ERFASSUNG DER
HYPERKOAGULABILITÄT IN DER SCHWANGERSCHAFT UND UNTER DER GEBURT

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Tillmann Schneeberger
aus Hauzenberg

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Graeff

Mitberichterstatter: Prof. Dr. J. Zander

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 6. 1976



Meiner Mutter gewidmet

Für die Überlassung des Themas bedanke
ich mich bei Herrn Prof. Dr. H. Graeff,
ebenso für seine stete Hilfsbereitschaft
bei allen auftretenden Problemen.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. rer. nat.
R. Hafter für seine wertvolle Beratung
und Unterstützung.

Inhalt

	Seite
A E I N L E I T U N G	1
B M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	5
1. Hämatokritbestimmung	5
2. Thrombozytenzählung	6
3. Äthanoltest	6
4. Fibrinogenbestimmung	7
5. Anreichern von Fibrinogen und seinen Derivaten durch Fällung mit β -Alanin	7
6. Agarose-Gelfiltration	8
7. Berechnung des relativen (Prozent des Gesamtfibrinogengehalts) und des abso- luten Gehaltes an LFMK im Plasma	9
8. Statistische Methoden	11
C E R G E B N I S S E	12
1. LFMK-Gehalt	
a) in der Schwangerschaft	12
b) unter der Geburt	14
2. Fibrinogen	
a) in der Schwangerschaft	15
b) unter der Geburt	15
3. Äthanoltest	16
4. Thrombozyten	16
D D I S K U S S I O N	17
E Z U S A M M E N F A S S U N G	23
F L I T E R A T U R	24

A E I N L E I T U N G

Normale Schwangerschaft und Geburt sind begleitet von beträchtlichen Veränderungen des hämostatischen und fibrinolytischen Systems. Diese Umstellung ist als Reaktion des Organismus auf die veränderten hormonalen und hämodynamischen Verhältnisse im Verlauf der Schwangerschaft zu sehen und findet ihren Ausdruck im gehäuftten Auftreten von Thrombosen und Lungenembolien und disseminierten intravasalen Gerinnungsvorgängen (Verbrauchskoagulopathie).

Die Konzentration der weiblichen Sexualhormone im mütterlichen Plasma nimmt während der Schwangerschaft kontinuierlich zu. Nach Lösung der Plazenta kommt es zu einem steilen Abfall von Östrogenen und Progesteron. Die Mittelwerte liegen post partum bei etwa 10 % der vor der Geburt gemessenen Konzentrationen (41). Vergleicht man die Veränderungen der Hormonspiegel im Plasma im Verlauf der Schwangerschaft mit den thrombotischen Komplikationen im selben Zeitraum, so ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß das Maximum der Thrombosefrequenz während der ersten 10 Tage des Wochenbetts zu finden ist, d. h. in einer Zeit, in der sich die Konzentrationen der weiblichen Sexualhormone wieder weitgehend denen des nichtgraviden Organismus angenähert haben (47).

Für das System der Gerinnung ist heute als gesichert zu betrachten, daß es während der Gravidität zu einer Zunahme der Konzentration bzw. Aktivität der plasmatischen Gerinnungsfaktoren VII, VIII, IX und X und des Fibrinogens kommt (42), unmittelbar post partum erreichen die Werte wieder die Norm.

Zum Verhalten des fibrinolytischen Systems während der Schwangerschaft und Geburt liegen nur wenige kontinuierliche Beobachtungen vor. Es läßt sich aber feststellen, daß es auch hier zu spezifischen Veränderungen kommt, die sich in ihrer Gesamtheit als Verminderung der lytischen Aktivität manifestieren und nach Lösung der Plazenta ebenfalls eine rasche Normalisierung erkennen lassen (45, 46, 6).

Lasch und Roka (36) bezeichnen diesen Zustand als "latente Gerinnung" und meinen damit einen physiologischen Vorgang, bei dem es trotz erhöhter plasmatischer Gerinnungsfaktoren auf Grund der Inhibitoren des hämostatischen Systems, wie der Abräumung von Gerinnungsprodukten im RES und der endogenen Fibrinolyse, nicht zu Fibrinniederschlägen in der terminalen Gefäßbahn kommt.

Angesichts der Tatsache, daß die größte Zahl thrombotischer Erkrankungen in einer Zeit der Normalisierung des hormonellen und hämostatischen Systems beobachtet wird, erhebt sich die Frage nach dem Aussagewert dieser Ergebnisse. Um sie richtig interpretieren zu können, bedarf es der Berücksichtigung folgender Punkte:

1. Die Veränderungen im Laufe der Schwangerschaft erfolgen gleichmäßig über einen relativ langen Zeitraum, der Organismus hat Zeit sich anzupassen. Die Rückkehr zur Norm vollzieht sich hingegen innerhalb weniger Stunden, überschießende Reaktionen sind während dieser Periode erklärbar.
2. Gerade während der Geburt treten Verhältnisse auf, die im Sinne der Virchow'schen Trias: Gefäß-Fluß-Inhalt als ideal für die Pathogenese einer Thrombose anzusehen sind: Es entwickelt sich durch den Blutverlust während der Geburt ein Zustand der relativen bis absoluten Hämostase in den erweiterten Beckenvenen. Gleichzeitig kommt es zur Traumatisierung dieser Venen mit vermutlich zum Teil massiven Endothelläsionen und letztlich erfüllt noch die Einschwemmung von Thromboplastin zusammen mit der Zunahme der Thrombozytenadhäsivität die dritte Voraussetzung zur Thrombosebildung (14, 39, 33).
3. Es ist notwendig, die Begriffe Hyperkoagulabilität und Thrombophilie zu trennen. Die bisherigen Untersuchungen haben den Nachweis von Veränderungen an Konzentration und Aktivität verschiedener Faktoren des Gerinnungssystems *in vitro* gebracht, die man bisher mit dem Begriff der Hyperkoagulabilität definiert. Im Gegensatz dazu steht das verhältnismäßig geringe Thromboserisiko während der Dauer dieses Zustandes. Aus diesem scheinbaren Widerspruch erhebt sich die Forderung nach

einer Einengung des Begriffes Hyperkoagulabilität durch Bestimmung von in vivo entstandenen Gerinnungsprodukten.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der disseminierten intravasalen Gerinnung. Die Verbrauchskoagulopathie ist im Gegensatz zur Thrombosebildung nicht eine lokale Entgleisung des aktivierten Gerinnungssystems, sondern es besteht Grund zu der Annahme, daß unter bestimmten Bedingungen LFMK aus der Zirkulation abgefangen werden, polymerisieren und in Form fibrinreicher intravaskulärer Gerinnsel die Zirkulation in bestimmten Gefäßabschnitten verlegen. Möglicherweise sind es neben der Klärfunktion des RES lokale Strömungsverhältnisse und lytische Aktivitäten, die den Aufbau der Fibringerinnsel aus Fibrinmonomeren verhindern können (4). Der Auslösemechanismus ist also hier eine Änderung der Gerinnungsaktivität durch pathologische Prozesse unterschiedlicher Ätiologie wie z. B. EPH-Gestosen, allergische Reaktionen, metastasierende Karzinome usw., wobei die Anfälligkeit für solche Störungen in der Schwangerschaft auf Grund der oben beschriebenen, noch als physiologisch zu bezeichnenden Änderung der Gerinnungsaktivität erhöht ist. Auf die erhöhte Bereitschaft zur Entstehung einer DIG weisen die Versuche von Apitz (1) hin, die zeigten, daß das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen bei schwangeren Tieren durch eine Endotoxininjektion ausgelöst werden kann, während sich dieser Effekt bei Nichtgraviden erst nach zwei Injektionen einstellt.

Untersuchungen von Graeff und v. Hugo (15) haben ergeben, daß die bei DIG entstehenden Gerinnungsprodukte ähnlich sind mit den bei Thrombinwirkung auf menschliches Plasma sich bildenden Derivaten, so daß der Verdacht nahe liegt, daß eine erhöhte Thrombinfreisetzung ein wichtiger Teil des Auslösemechanismus ist.

Als der direkteste Beweis einer intravasalen Thrombinaktivierung bzw. eines gesteigerten Umsatzes von Fibrinogen im Plasma kann heute der Nachweis von löslichen Fibrinmonomerkomplexen (LFMK) angesehen werden. Bewährte einfache Testsysteme zur Erfassung von LFMK im Plasma sind der Äthanoltest (12), oder der Protaminsulfatetest (37, 40). Diese haben ihre Bestätigung als

einfache diagnostische Hilfsmittel bei der Aufdeckung von hyperkoagulablen Zuständen im Schock (25), bei Herzinfarkt (19), bei Pneumonien (13), bei asphyktischen Neugeborenen (18, 26, 34) und bei disseminierter intravasaler Gerinnung (4, 7, 21, 35, 10) gefunden. Sie reagieren allerdings nur auf grobe Veränderungen der LFMK-Konzentrationen und erlauben keine quantitative Aussage.

Erst die Methode der Gelfiltration nach Fletcher (10) eröffnete die Möglichkeit, zuverlässige Aussagen zu treffen. Nach Anreicherung des Fibrinogens und der LFMK mittels Plasmafällung durch β -Alanin und nachfolgende Gelfiltration ist eine Trennung der LFMK vom Fibrinogen zu erreichen und damit eine quantitative Bestimmung des LFMK-Gehalts im Plasma möglich (16). Dieses Verfahren wurde bereits bei der Bestimmung des LFMK-Gehalts von Plasmen angewandt, die nach der Geburt und im Wochenbett gewonnen worden waren (20).

Daß das Auftreten von höhermolekularen Derivaten des Fibrinogens eng mit einer erhöhten Gerinnungsbereitschaft verknüpft ist, wurde inzwischen durch zahlreiche Arbeiten belegt. Es erscheint nun aber wichtig, durch Erstellung von Normalwerten die physiologische Steigerung der Umsatzrate von Zwischenprodukten der Gerinnung von einem beginnenden pathologischen Prozeß dieser Art abzugrenzen.

B M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

Es wurden Blutproben von 67 gesunden Primi- und Multipara (20 - 35 Jahre) der 6. bis 40. Schwangerschaftswoche, sowie eine Gruppe von 8 Gebärenden während der Eröffnungsperiode und unmittelbar nach Geburt der Plazenta untersucht. Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett verliefen in allen Fällen ohne besondere Vorkommnisse.

Die Blutentnahmen (je 9 ml) erfolgten unter leichter, gleichmäßiger Aspiration mittels Einmalkanülen (0,80 x 32 mm) und 10 ml Einmalspritzen im Zwei-Spritzen-System aus einer kurz gestauten Kubitalvene. Die ersten 5 ml Blut wurden verworfen. In den Spritzen war als Antikoagulanslösung 1 ml Citrat-Trasylol-Gemisch, pH 7,5, vorgelegt: 0,129 m tri-Na-Citrat, 0,06 m TES (= Tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-aminoäthan-sulfonsäure, 1000 KIE Trasylol (Bayer, Leverkusen) per ml.

Der Inhalt wurde sofort nach der Entnahme sorgfältig vermischt und unverzüglich verarbeitet. Nachdem die entsprechenden Mengen zur Thrombozytenzählung und Hk-Bestimmung entnommen waren, wurde das Blut 20 min bei 1200 g und 4° C zentrifugiert. Nach Abheben des so gewonnenen plättchenarmen Plasmas wurde der Äthanoltest durchgeführt und die Fibrinogenbestimmung angesetzt. Der Rest wurde mit 50 USP-E Heparin (Liquemin, Hoffmann-La Roche, Grenzach) pro 5 ml Plasma versetzt und sofern er nicht sofort weiterverarbeitet wurde, bei - 25° C eingefroren und bis zu 4 Wochen höchstens aufbewahrt.

1. Hämatokritbestimmung (nach Strumia, 50)

Der Hämatokrit wurde mit antikoagulansversetztem Blut mit Micro-Hematocrit-Tubes (Clay Adams, Parsipanny, N. J., USA) bestimmt. Das Resultat wurde mit einem, die Verdünnung bei der Blutentnahme ausgleichenden Faktor (1,111) multipliziert.

2. Thrombozytenzählung (nach Feissly u. Ludin, beschrieben bei 9)

Eine Erythrozytenpipette wird bis zur Marke 0,5 mit Citratblut und anschließend mit 2 %iger Novocainlösung (zur Hämolyse der Erythrozyten) bis zur Marke 1 01 aufgezogen, der Inhalt durchmischt und die Pipette 20 min liegen gelassen. Nach Verwerfen der ersten Tropfen wird eine Neubauer-Zählkammer beidseitig beschickt und für 10 min in eine feuchte Kammer eingelegt. Danach werden unter dem Phasenkontrastmikroskop zwei große Quadrate ausgezählt und die ermittelte Zahl mit dem Faktor 1111 multipliziert.

3. Äthanoltest (nach 11, modifiziert nach 12, 35)

In einem 1 x 10 cm messenden RG-Gläschen wird zu 0,5 ml Plasma 0,15 ml Äthanol-TES-Pufferlösung pH 7,8 gegeben und sorgfältig gemischt. Nach genau 10 min wird das Gemisch unter seitlicher Beleuchtung gegen einen dunklen Hintergrund beurteilt, wobei nach folgenden Kriterien entschieden wird:

negativ (-)	= klare oder gering getrübbte Lösung.
fraglich positiv (+)	= einzelne, zarte, mit einem Glashäkchen ziehbare Fädchen und/oder flockige Trübung.
doppelt positiv (++)	= zahlreiche, deutlich sichtbare Fäden.
dreifach positiv (+++)	= homogenes Gel oder dichte Knäuel von Einzelfäden.

Die Bewertung erfolgte stets durch denselben Untersucher mit Doppelbestimmungen. Die vorgenommene, fein abgestufte Einteilung sollte auf eventuelle Übereinstimmungen mit dem LFMK-Gehalt hinweisen.

4. Fibrinogenbestimmung (nach Blombäck u. Blombäck, beschrieben bei 5)

0,5 ml Plasma werden mit 2,5 ml Phosphatpuffer (0,01 m, 0,15 m an NaCl, pH 6,35) und 0,15 ml Thrombinlösung (4,5 NIH Test-Thrombin, ORHT, Behringwerke, Marburg) versetzt und sofort kräftig durchgemischt. Nach zwei Stunden wird das Fibringerinnsel mit einem Glashäkchen entnommen, auf einem Nylongewebe syneräsiert, dreimal mit 0,15 m NaCl-Lösung gewaschen und in ein verschraubbares Glasröhrchen mit 10 ml 40 %iger Harnstofflösung (0,2 m an NaOH) überführt. Nach Zusatz von 1 ml 0,3 m NaCl-Lösung wird nach vollständiger Lyse des Gerinnsels die optische Dichte in einer 1 cm Quarzküvette bei 280 und 325 nm gegen eine Blindlösung gemessen (Spektralphotometer Hitachi 181). Die Berechnung erfolgte nach der Formel:

$$\text{mg Fibrinogen/ml} = \Delta E_{280-325 \text{ nm}} \times 6,927 \times 2.$$

Der Faktor 6,927 errechnet sich aus dem Extinktionskoeffizienten für Fibrinogen in Alkali von 15,87 ($E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$) nach Hörmann und Gollwitzer (27).

Die Fibrinogenwerte wurden noch um die Antikoagulantienverdünnung korrigiert, wobei entsprechend den Überlegungen von Sehligsohn und Mitarbeiter (41) nach folgender Formel der Hämatokrit mit berücksichtigt wurde:

$$\text{mg\% Fibrinogen (korr.)} = \text{mg\% Fibrinogen} \times \frac{100 - \text{HK}}{(100 - \text{HK}) - 10}, \text{ wobei HK für nichtkorrigierten Hämatokrit steht.}$$

Die Fibrinogenbestimmungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Berechnung der Präzision in der Serie ergab für die Methode einen Variationskoeffizienten von 1,8 %.

5. Anreicherung von Fibrinogen und seinen Derivaten durch Fällung mit β -Alanin (nach Straughn u. Wagner (48), modifiziert nach Graeff u. v. Hugo (16))

Zu 2,5 ml Plasma werden unter langsamem Rühren im Eiswasserbad

innerhalb von 10 min 3 ml 40 %ige β -Alaninlösung zugetropft (Endkonzentration 2,5 m). Nach weiteren 10 min Rühren wird der Niederschlag bei 2000 g (5 min, 4° C) abzentrifugiert, der Überstand verworfen und das verbleibende Präzipitat unter Rühren bei Raumtemperatur in 1 ml TES-Trasyllol-Citrat-Puffer (pH 7,5) gelöst. Eine eventuell verbleibende Trübung wird durch Zentrifugieren bei Raumtemperatur mit einer Tischzentrifuge (Hettich EBA III) entfernt.

Von dieser Lösung werden 0,05 ml entnommen, mit 0,05 ml TES-Puffer und 0,1 ml Glycerin (Glycerin, doppelt destilliert, zur Analyse, 1,23, Merck, Darmstadt) versetzt und bei - 25° C für die Elektrophorese aufbewahrt.

(TES-Trasyllol-Citrat-Puffer, pH 7,5: 0,06 m TES, 0,081 m NaCl, 0,0129 m tri-Na-Citrat, 100 KIE Trasyllol per ml).

6. Agarose-Gelfiltration

Die Gelfiltration erfolgte an 4 %iger Agarose (Biogel A-15 m, 100 - 200 mesh, Bio-Rad Lab., München). Der Proteingehalt der Proben wurde photometrisch bestimmt, um durch Auftragen ähnlicher Konzentrationen vergleichbare Werte zu erhalten. Die Proben, die 5 - 8 mg Protein enthielten, wurden auf 1,5 x 80 cm Säulen aufgetragen und mit Tris-Cl-Citrat-Puffer, pH 7,6, eluiert. Die Durchflußrate im freien Fall betrug 13 ml/h. Das Eluat wurde automatisch in Einzelfraktionen zu je 3 ml aufgefangen. Nach Beendigung des Laufes wurde die optische Dichte der Fraktionen mit einem Spektralphotometer Hitachi 181 bei 280 und 325 nm gemessen und die Differenz $\Delta E_{280-325 \text{ nm}}$ für jede Fraktion auf Millimeterpapier aufgetragen.

Doppelbestimmungen wurden unter gleichzeitiger Verwendung von 2 Säulen durchgeführt.

(Tris-Cl-Citrat-Puffer, pH 7,6: 0,05 m Tris, 0,116 m NaCl, 0,0129 m tri-Na-Citrat, 0,2 m ϵ -Aminokaprönsäure (EACA), 0,025 % Na-Azid, mit HCl auf pH 7,6 eingestellt).

7. Berechnung des relativen (Prozent des Gesamtfibrinogengehalts) und des absoluten Gehaltes an LFMK im Plasma

In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß LFMK in einer Schulter vor dem Fibrinogenpeak eluiert werden (17) (zwischen Ausschlußvolumen und aufsteigendem Schenkel des Fibrinogenpeaks).

Es handelt sich hierbei hauptsächlich um eine Komponente, die in der Polyacrylamidgel-Elektrophorese eine Beweglichkeit von $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ (bei pH 8,6) besitzt und auf Grund ihres Wanderungsverhaltens wahrscheinlich ein Dimer des Fibrinogens (Fibrinogen-Fibrinmonomerkomplex) darstellt. Daneben werden auch noch Banden mit höherem Teilchengewicht (Oligomere) beobachtet (15).

Dieser Teil des Elutionsvolumens, auf Abb. 1 mit A bezeichnet, wurde planimetriert und mit der Fläche des Fibrinogenpeaks (B) verglichen. Das Planimetrieren erfolgte durch Ausschneiden der entsprechenden Kurvenabschnitte und Auswiegen der Papierabschnitte auf einer Analysenwaage. Der Prozentgehalt an LFMK errechnet sich nach folgender Formel:

Prozent LFMK = $\frac{A}{A + B} \times 100$, wobei A und B in mg in die Formel eingesetzt werden. Der absolute Gehalt an LFMK in mg/100 ml Plasma errechnet sich wie folgt:

$$\text{LFMK (mg/100 ml)} = \frac{\text{LFMK\%} \times \text{Fibrinogen mg/100 ml}}{100}$$

Der Nachweis von Fibrinogen und seinen Derivaten in der eluierten Vorschulter und im Fibrinogenpeak wurde auch durch Polyacrylamidgelelektrophorese vor und nach Spaltung der intramolekularen Disulfidbrücken mit Merkaptoäthanol, und in einigen Fällen mit dem Staphylokokken-Clumping-Test (Behringwerke, Marburg) geführt.

Die Präzision der Bestimmungsmethode wurde an einem größeren Material durch Doppelbestimmungen (Präzision in der Serie), und durch Mehrfachbestimmungen aus gepoolten Proben (Präzision von Tag zu Tag) ermittelt.

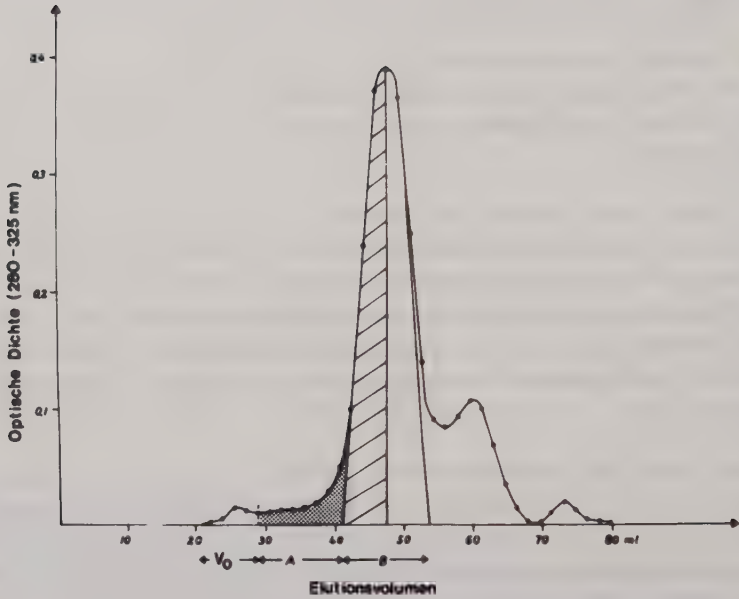


Abb. 1

Elutionskurve nach Agarose-Gel-Filtration (Biogel A-15 m)

β -Alanin-gefällter Plasmaproben. Optische Dichte (280 - 325 nm)---.

Der Kurvenausschnitt zwischen dem Ausschlußvolumen und dem aufsteigenden Teil des Fibrinogenpeaks (A) wird mit dem des Fibrinogenpeaks (B) verglichen. Der prozentuale Anteil an LFMK (in Relation zum Gesamtfibrinogengehalt) wird nach folgender Formel bestimmt: % LFMK = $A \times 100 / A + B$.

	LFMK % des Gesamtfibrinogens	n	Variations- koeffizient
I	0 - 5	21	9,0
	5,1 - 10,0	21	8,2
	10	13	5,9
	gesamt	55	8,0
II		12	8,1

Tab. 1

Verlässlichkeitskriterien der quantitativen Gelfiltration.

(I = Präzision in der Serie; II = Präzision von Tag zu Tag).

8. Statistische Methoden

Die Verteilung der Werte wurde unter Verwendung einer Probitgeraden geprüft. Die Einzelergebnisse wurden in Gruppen zusammengefaßt und die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Der t-Test wurde benutzt, um die Werte der 36. bis 40. Schwangerschaftswoche (Gruppe F) mit denen der vorhergehenden Gruppen (A - E) zu vergleichen. Zusätzlich wurde ein nichtparametrischer Test (Wilcoxon-Test) herangezogen. Die einfache Varianzanalyse wurde zur Ermittlung des Verlaufs der Werte verwandt. Die Blutentnahmen während und nach der Geburt erfolgten jeweils bei der selben Patientin. Für den Vergleich dieser Werte wurden der t-Test für gepaarte Beobachtungen sowie der Wilcoxon-Test für gepaarte Beobachtungen angewandt.

C E R G E B N I S S E

Bei den Ergebnissen der LFMK und Fibrinogenbestimmungen wurden zwei Gruppen unterschieden. Die Untersuchungen während der Schwangerschaft wurden von denjenigen, die unter der Geburt gemacht worden waren getrennt, da es sich hierbei um unterschiedliche Kollektive handelt. Bei der Geburtsgruppe handelt es sich um gepaarte Beobachtungen, die Blutentnahme erfolgte jeweils an der selben Patientin in der Eröffnungsperiode und nach der Geburt der Plazenta. Das Schwangerenkollektiv besteht aus zufällig ausgewählten Einzelpatientinnen.

1. LFMK-Gehalt

a) in der Schwangerschaft

Der prozentuale Gehalt an LFMK steigt ab der 10. Schwangerschaftswoche etwa gleichmäßig an. Die Mittelwerte erhöhen sich von 2,6 % vor der 10. SSW (Gruppe A) auf 4,9 % am Ende der Schwangerschaft (36. - 40. SSW; Gruppe F) (siehe Abb. 2).

Die Unterschiede in der Schwangerschaft zwischen Gruppe F einerseits und den Gruppen A, B und C andererseits sind statistisch signifikant auf dem 1 %-Niveau ($p < 0,01$).

Der absolute Gehalt an LFMK (mg/100 ml Plasma) ändert sich bei gleichbleibendem Fibrinogengehalt bis zur 20. SSW nur wenig. Danach steigt er jedoch exponential an, da ab diesem Zeitpunkt sowohl der Prozentgehalt an LFMK als auch der Fibrinogengehalt zunehmen. Die Mittelwerte, die zu Anfang der Schwangerschaft bei 7,4 mg/100 ml Plasma liegen, erhöhen sich bis auf 20 mg/100 ml am Ende der Schwangerschaft (Abb. 3).

Die Unterschiede zu der Gruppe F sind bei den Gruppen A - C hochsignifikant ($p < 0,001$) und bei der Gruppe D ebenfalls noch signifikant ($p < 0,01$).

In der einfachen Varianzanalyse erweist sich der ansteigende Verlauf von relativem (Prozent des Gesamtfibrinogens) und absolutem Gehalt an LFMK als statistisch gesichert.

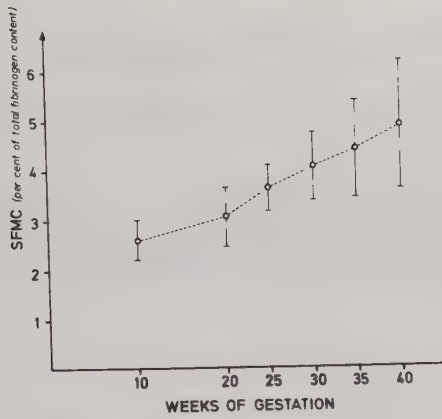


Abb. 2

Verhalten von LFMK % während der Schwangerschaft

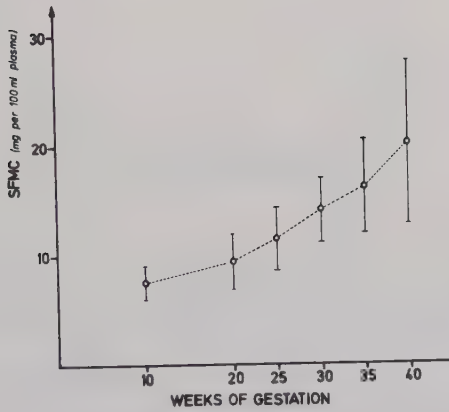


Abb. 3

Verhalten von LFMK mg% während der Schwangerschaft

b) unter der Geburt:

Die durchschnittlichen Werte des relativen LFMK-Gehalts lagen vor der Geburt bei 4,3 %. Unmittelbar nach Geburt der Plazenta ergab sich ein Wert von 5,3 %, der Unterschied ist statistisch signifikant.

Auch der absolute Gehalt an LFMK zeigt einen deutlichen Anstieg von 16,5 mg/100 ml Plasma auf 21,1 mg/100 ml. Die Steigerungsrate ist wegen des nahezu unveränderten Fibrinogenspiegels kleiner (Abb. 4).

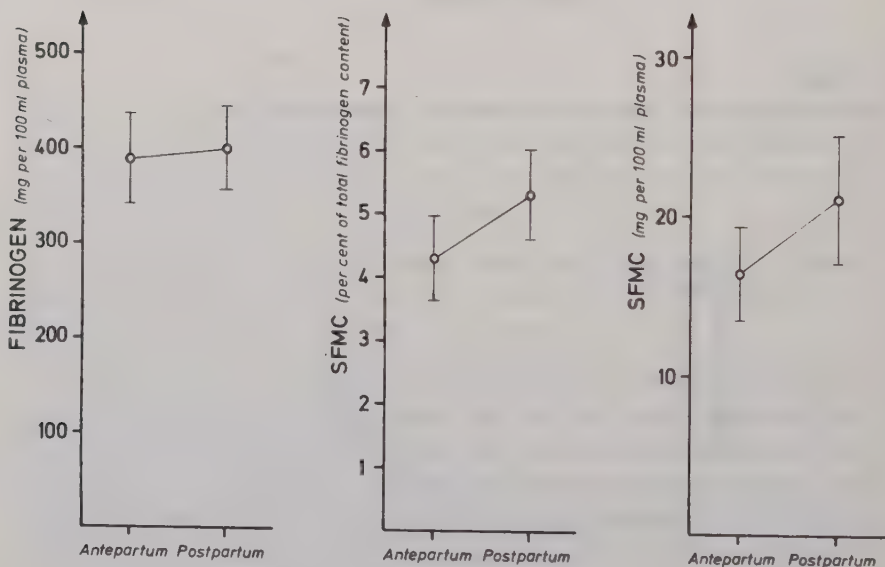


Abb. 4

Verhalten von Fibrinogen, relativem und absolutem Gehalt an LFMK vor und nach Geburt. Antepartum = in der Eröffnungsperiode; Postpartum = nach Geburt der Plazenta.

2. Fibrinogen

a) in der Schwangerschaft:

Ein deutlicher Anstieg der Fibrinogenwerte zeigte sich erst ab der 21. SSW. Der Mittelwert am Ende der Schwangerschaft liegt bei 410 ± 44 mg/100 ml Plasma. Die Unterschiede von Gruppe F zu den Gruppen A, B und C sind statistisch signifikant ($p < 0,001$; $p < 0,005$), der ansteigende Verlauf während der Schwangerschaft erweist sich in der einfachen Varianzanalyse als gesichert (Abb. 6).

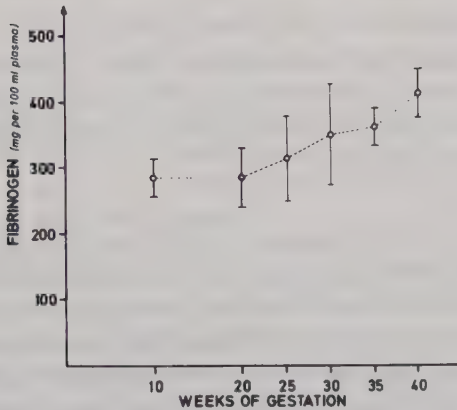


Abb. 6

Verhalten von Fibrinogen unter der Schwangerschaft

b) unter der Geburt:

Die Fibrinogenwerte verändern sich im Verlauf der Geburt nur unwesentlich. Der leichte Anstieg der Mittelwerte von 390 mg/100 ml auf 399 mg/100 ml Plasma ist nicht signifikant (siehe Abb. 4).

3. Äthanoltest

Der Äthanoltest war bei allen untersuchten Proben nach der strengen Auslegung von Godal und Abildgaard als negativ zu beurteilen. Es trat in keinem Fall eine Gelbildung auf. In 28 Fällen wurde eine Fädchenbildung und in 12 Fällen eine Flockung beobachtet.

Eine Übereinstimmung zwischen LFMK-Gehalt und der selbst gewählten feinen Testabstufung konnte nicht beobachtet werden. Die leichte Tendenz zu mehrfach positiven Testergebnissen bei steigendem LFMK-Gehalt erlaubt keine quantitative Aussage.

4. Thrombozyten

Die Thrombozytenzahlen zeigen trotz beträchtlicher Streuung der Einzelwerte keine charakteristischen Veränderungen im Verlauf der Schwangerschaft. Die Mittelwerte lagen zwischen 198 000 und 215 000/mm³. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind statistisch nicht signifikant.

Der optische Eindruck der Probitgeraden ergibt eine Normalverteilung der untersuchten Proben. Trotzdem wurden zusätzlich zur statistischen Abklärung der Ergebnisse noch nicht-parametrische Tests (Wilcoxon-Test für die Befunde in der Schwangerschaft; Wilcoxon-Test für gepaarte Beobachtungen für die Befunde unter der Geburt) angewandt. Hierdurch wurden die oben beschriebenen Ergebnisse bestätigt.

D I S K U S S I O N

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, daß es während normaler Schwangerschaft und Geburt zu einem deutlichen Anstieg der Konzentration von löslichen Fibrinmonomerkomplexen im Plasma kommt. Die Werte bleiben bis zur 10. SSW relativ konstant. Der Gehalt von 2,6 % zu dieser Zeit deckt sich gut mit der ermittelten Prozentzahl von 2,5 bei normalem Humanplasma. Es sei aber darauf hingewiesen, daß es sich hierbei um einen rein rechnerisch aus dem Kurvenverlauf der Gelfiltration ermittelten Wert handelt, der nur als hypothetischer Wert gelten kann. Da er den Grenzwert der Erfafbarkeit der Methode nach unten darstellt, ist ein geringerer Gehalt an LFMK, wie er möglicherweise im Normalplasma tatsächlich vorliegt, nicht mehr differenziert zu erfassen. Ab der 10. Woche findet sich ein konstanter Anstieg bis zu 4,9 % gegen Ende der Gravidität. Der Vergleich der Untersuchungen im Verlauf der komplikationslosen Geburt läßt einen weiteren Anstieg um etwa 1 % erkennen, wodurch der Übergang zu früheren Untersuchungen (20) geschaffen wird, in denen für die ersten 6 Tage des Wochenbetts 6 - 7 % LFMK (bezogen auf den Gesamtfibrinogengehalt) ermittelt wurden.

Zur Identifizierung der LFMK wurde die Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese angewandt. Das Laufverhalten der Proteine im PAA-Gel wird durch ihre Molekülgröße und Ladung bestimmt. Bei konstanten Gel- und Laufbedingungen kann die relative elektrophoretische Beweglichkeit dieser Proteine zu ihrer Klassifizierung herangezogen werden. Bei den LFMK, die in der Schwangerschaft und Perinatalperiode auftreten, konnten bei Untersuchungen von Graeff u. Mitarb. (16) zwei Fibrinogenderivate mit einer elektrophoretischen Beweglichkeit von 0,18 und $0,28 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{V} \times \text{sec}$ nachgewiesen werden, wobei das 0,18-Derivat nur in Spuren zu finden ist. Das 0,28-Derivat konnte durch Intra-Gel-Immunpräzipitation als fibrinogenverwandtes Antigen-Material (FRA-Material) identifiziert werden. Es handelt sich um einen in Harnstoff dissoziierbaren Komplex zwischen Fibrinogen und einem Fibrinmonomer, das etwa das doppelte Molekulargewicht des Fibrinogens besitzt und somit einer dimeren Struktur entspricht. Vermutlich besteht eine

Übereinstimmung dieses Derivats mit den von Shainoff u. Page (44) und Harder u. Sraub (23) beschriebenen LFMK.

Solche Komplexe werden auch nach Zugabe von kleinen Mengen von Thrombin zu Plasma gefunden (27, 31). Es erscheint daher die Annahme berechtigt, daß auch die in vivo beobachteten LFMK durch die Wirkung von Thrombin oder einem thrombinähnlichen Enzym auf Fibrinogen zustande kommen.

Eine Möglichkeit für diese Genese der LFMK bietet die Thromboplastineinschwemmung aus der Plazenta unter der Geburt (39), wobei die Tatsache begünstigend wirkt, daß das Plazentagewebe im Gegensatz zur Uteruswand keine Aktivatoren des fibrinolytischen Systems enthält (3).

Verwendet man bei der PAA-Gel-Elektrophorese LFMK, die im Bereich der Vorschulter eluiert wurden, so zeigt sich, daß auch frühe Abbauprodukte des Fibrinogens am Zustandekommen dieser Komponente beteiligt sein können. Nach Spaltung der LFMK mit Mercaptoäthanol in die einzelnen Peptidketten wird die α -Kette des Fibrinogens in einzelnen Fällen vermindert angetroffen. Dies weist auf die erhöhte Plasminaktivität bei hyperkoagulablen Zuständen hin und zeigt, daß die so entstehenden frühen Abbauprodukte des Fibrinogens oder Fibrins ebenfalls an der Komplexbildung teilhaben können (38).

Die erhöhte Plasminaktivität bei Hyperkoagulabilität, insbesondere bei schon manifesten Zuständen wie DIG, bei asphyktischen Neugeborenen mit Zeichen von DIG, bei schwerer Eklampsie und DIG, nach vorzeitiger Plazentalösung oder beim Dead-Fetus-Syndrom wird durch das verstärkte Auftreten des 0,18-Derivats belegt. Die Bildung dieses Derivats kann nämlich nicht durch in vitro-Zugabe von Thrombin zu Plasma induziert werden und sein Laufverhalten kann nicht in Beziehung zu den Werten gebracht werden, die sich bei Mono-, Di- oder höheren x-Meren ergeben, wenn man ihre elektrophoretische Beweglichkeit in Relation zu ihren Molekulargewichten bringt. Es kann deshalb angenommen werden, daß das 0,18-Derivat ein durch Plasmineinwirkung auf Fibrin entstandenes Defektpolymer ist, welches kovalente intermolekulare Vernetzungen

aufweist worauf die Beständigkeit in Urea hinweist. Es liegt daher nahe, den Nachweis, bzw. den erhöhten Anteil des 0,18-Derivats im Verhältnis zum 0,28-Derivat mit einer schon in Gang gekommenen DIG in Verbindung zu bringen.

Bei der normalen Schwangerschaft und Perinatalperiode konnten bei der Kettenanalyse keine Hinweise auf Entstehung von γ - γ -Dimeren als Ausdruck einer echten kovalenten Stabilisierung von Fibrinmonomeren durch Faktor XIIIa gewonnen werden. Das Vorkommen von γ - γ -Dimeren konnte bisher nur bei den oben erwähnten ausgeprägten Fällen von intravaskulärer Gerinnung beobachtet werden (22).

Die Befunde während der Gestation und die besonderen Beobachtungen bei Fällen von DIG lassen vermuten, daß Hyperkoagulabilität und intravaskuläre Gerinnung durch die aufgeführten methodischen Schritte erfaßt und abgegrenzt werden können.

Die Methode der Gelfiltration zur Abtrennung der LFMK vom Fibrinogen erlaubt es, relativ genaue quantitative Aussagen zu treffen und damit den Grad der Hyperkoagulabilität zu bestimmen. Durch Untersuchungen an einem größeren Kollektiv wurde die gute Reproduzierbarkeit der Methode belegt, wie sie in Tab. 1 dargestellt ist. Der Variationskoeffizient für 55 Vergleichsmessungen (Präzision in der Serie) lag bei insgesamt 8,0 %. Er wird noch kleiner, wenn der LFMK-Gehalt auf über 10 % zunimmt.

Keine genauen Aussagen lassen sich über die absolute Genauigkeit machen, da es bislang keine vergleichbaren Ergebnisse anderer Methoden gibt. Eine gewisse Fehlerbreite muß man der Methode jedoch einräumen. Die Ermittlung der LFMK-Werte nach dem oben beschriebenen Verfahren erscheint sehr einfach, erfordert aber viel Zeit und große Sorgfalt und kann natürlich keine exakten Werte liefern. Die in den Tabellen erscheinende Genauigkeit von 0,1 % soll nicht etwas suggerieren, was die Methode nicht leisten kann. Zu den Fehlern, die bei der spektralphotometrischen Messung oder bei der eigentlichen Auswertung durch Schwierigkeiten der Ermittlung des exakten Scheitelpunkt des Fibrinogenpeaks oder der Festlegung der tatsächlichen Nulllinie entstehen, kommt noch hinzu,

daß die Abtrennung der LFMK vom Fibrinogen nicht vollständig erfolgt, sondern ein fließender Übergang vorliegt. So konnten von Graeff u. v. Hugo (15) auch im aufsteigenden Schenkel des Fibrinogenpeaks noch LFMK nachgewiesen werden, diese Beobachtung deckt sich auch mit den Befunden, die Ströder u. Hörmann (49) bei in vitro-Untersuchungen erhielten.

Rechnerisch wird aus diesen Überlegungen keine Konsequenz gezogen, da andernseits im Bereich der Vorschulter freies Fibrinogen gefunden werden kann und damit ein gewisser Ausgleich der Mengen erfolgt. Man versucht dieser Tatsache mit dem etwa willkürlich gezogenen Trennstrich (Abb. 1) zwischen LFMK- und Fibrinogenbereich gerecht zu werden, der, als einfache Gerade gezogen, auch zur Vereinfachung und besseren Reproduzierbarkeit der Methode beiträgt. Es hat sich allerdings gezeigt, daß diese Auswertung bei niedrigen Konzentrationen zu hohe Werte für LFMK ergibt. Bei der Auftrennung von Normal-Plasma, das LFMK nur in geringen Mengen enthält (29), ergibt sich ein Wert von etwa 2,5 % LFMK. Daraus folgt, daß die ermittelten Werte bei niederem Gehalt an LFMK zu hoch liegen, bei höheren Konzentrationen fällt dieser Fehler nicht so sehr ins Gewicht.

Hinweise auf LFMK konnten in Plasmaproben von Schwangeren und Wöchnerinnen schon durch andere Methoden wie Kryopräzipitation (8, 32), Fällung mit Protaminsulfat (32), oder durch den Äthanoltest (35, 11) gewonnen werden.

Hierbei ist jedoch zu bemerken, daß ein im strengen Sinn (nach Godal, 12) positiver Äthanoltest mit Ausbildung eines Gels 10 min nach Testansatz bei normalen Schwangeren und Wöchnerinnen nicht beobachtet wurde. Ein eindeutig positives Testergebnis ergab sich während der Gestation nur dann, wenn pathologische Zustände mit Zeichen intravaskulärer Gerinnung (z. B. Eklampsie oder schwere Präeklampsie, septische Komplikationen bei Aborten oder im Wochenbett u. ä.) vorlagen. In diesen Fällen lag der Gehalt an LFMK über 30 mg/100 ml Plasma. In einem anderen Fall von schwerer Verbrauchskoagulopathie lag der relative Gehalt zwischen 20 und 25 % des Gesamtfibrinogens. Diese Befunde passen

gut zu den Beobachtungen von Kierulf u. Godal (30), die einen positiven Äthanoltest nur in Fällen mit pathologischen Veränderungen fanden.

Die bei den eigenen Untersuchungen angewandte feine Abstufung in der Bewertung des Testes sollte zeigen, ob eine Übereinstimmung des Testergebnisses mit bestimmten LFMK%-Werten erreicht werden kann und somit das Vorhandensein der Hyperkoagulabilitäts-Äquivalente in Form der LFMK durch eine einfache und schnelle Methode annähernd quantitativ belegt werden kann. Bei den in dieser Studie ermittelten Werten konnte keine eindeutige Beziehung zwischen Äthanoltestwerten und LFMK-Gehalt festgestellt werden, offensichtlich stellt sich diese Korrelation erst bei höheren, schon als eindeutig pathologisch zu bezeichnenden Prozentzahlen ein (51). Es eröffnet sich also bei Bestätigung dieser Befunde die Aussicht, bei gefährdeten Personen mit der relativ einfach durchzuführenden Methode des Äthanoltestes Fälle von Hyperkoagulabilität zu erfassen, den Zustand mit Hilfe der Gelfiltration zu verifizieren und den Verlauf zu kontrollieren.

Einschränkend zur Wertigkeit des Tests muß gesagt werden, daß ein hoher Fibrinogengehalt bei (wieder) niederen LFMK-Konzentrationen wie er z. B. nach abgelaufenen intravaskulären Gerinnungsvorgängen oder auch während der Heparinprophylaxe beim septischen Abort beobachtet wird, zu einem positiven Testausfall führen kann. Hieraus wird deutlich, daß erst ein direkter und quantitativer Nachweis von LFMK definitive Rückschlüsse möglich macht.

Diese quantitative Bestimmung von LFMK während der Schwangerschaft und unter der Geburt zeigt, daß das Ausmaß der Hyperkoagulabilität an der Menge der Umsatzprodukte des Fibrinogens abgelesen werden kann. Dies könnte die Früherfassung von thromboembolischen Komplikationen ermöglichen. In dem Zusammenhang erscheint die kürzlich von Harker u. Slichter (24) gemachte Beobachtung, daß gerade bei venösen Thromboembolien der Fibrinogenumsatz erhöht ist, von Interesse. Darüber hinaus könnten weitere Informationen über die pathogenetische Bedeutung von placentaren Fibrinniederschlägen bei intrauteriner Wachstumsretardie-

rung gewonnen werden. Zusammen mit der quantitativen Analyse von LFMK bzw. hochmolekularen Derivaten des Fibrinogens (15,22) ergibt sich in Fällen intravaskulärer Gerinnung die Möglichkeit einer eingehenden Beschreibung der Pathogenese und des Ausmaßes der Verbrauchskoagulopathie.

E Z U S A M M E N F A S S U N G

Der quantitative Gehalt an löslichen Fibrinmonomerkomplexen (LFMK) wurde bei Blutproben von 67 gesunden Primi- und Multipara der 6. - 40. Schwangerschaftswoche, sowie 8 Gebärenden während der Eröffnungsperiode und unmittelbar nach Geburt der Plazenta bestimmt, um den Grad der Hyperkoagulabilität zu erfassen. Die Auftrennung der Proben erfolgte mittels Agarose-Gel-Filtration nach vorhergehender Anreicherung von Fibrinogen und LFMK durch β -Alanin-Fällung.

Während der Schwangerschaft ergab sich ein Anstieg von $2,6 \pm 0,4$ auf $4,9 \pm 1,3$ %, unter der Geburt erfolgte ein weiterer Anstieg von $4,3 \pm 0,7$ auf $5,3 \pm 0,7$ %. Die Identifizierung mit Hilfe der Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese und die Kettenanalyse nach Spaltung durch Mercaptoäthanol zeigte, daß beim Zustandekommen der LFMK-Komponente sowohl durch Thrombinaktivierung entstandene Derivate, als auch frühe Abbauprodukte des Fibrinogens beteiligt sind.

Die Untersuchung ergibt die Möglichkeit, die Hyperkoagulabilität während der Gestation zu erfassen und dadurch eine Gefährdung durch Thromboembolien oder Verbrauchskoagulopathien frühzeitig zu erkennen.

F L I T E R A T U R

- (1) Apitz, K.: A study of the generalized Shwartzman-Phenomenon.
J. Immunol. 29 (1935), 255
- (2) Beller, F.K.,
Graeff, H.: Deposition of glomerular fibrin in the rabbit after infusion with endotoxin.
Nature (Lond.) 215 (1967), 295
- (3) Beller, F.K.,
Herschlein, H.J.,
Goessner, W.: The quantity of tissue activator of the fibrinolytic system of placental tissue.
Obstet. and Gynec. 20 (1962) 117
- (4) Bleyl, U.,
Kuhn, W.,
Graeff, H.: Reticulo-endotheliale Clearance intravasaler Fibrinmonomere in der Milz.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 22 (1969) 87
- (5) Blombäck, B.,
Blombäck, M.: Purification of human and bovine fibrinogen.
Arkiv Kemi 10 (1956) 415
- (6) Bonnar, J.,
McNicol, G.P.,
Douglas, A.S.: Coagulation and fibrinolytic mechanisms during and after normal childbirth.
Brit. med. J. 2 (1970) 200
- (7) Breen, F.A.,
Tullis, J.L.: Ethanol gelation: A rapid screening test for intravascular coagulation.
Ann. Int. Med. 69 /1968) 1197
- (8) Chandra, R.K.,
Malkani, P.K.,
Bhasin, K.: Serum levels of α_2 -macroglobulin and IgG and cryofibrinogenemia in pregnancy.
Obstet. Gynecol. 41 (1973) 56
- (9) Feissly, R.,
Ludin, H.: Mikroskopie par contrastes de phases.
Rev. hémat. 4 (1949) 481
- (10) Fletcher, A.P.,
Alkjaersig, N.,
O'Brien, J.: Blood hypercoagulability and thrombosis.
Abstract Vol. XIII. Int. Congr. of Hemat. Munich (1970) 244

- (11) Frigoletto, F.D.,
Tullis, J.L.,
Reid, D.E.,
Hinman, J.: Hypercoagulability in the dysmature syndrome.
Am. J. Obstet. Gynecol. 111 (1971) 867
- (12) Godal, H.C.,
Abildgaard, U.: Gelation of soluble fibrin in plasma by ethanol. Scand.
J. Haematol. 3 (1966) 342
- (13) Godal, H.C.,
Abildgaard, U.,
Kierulf, P.: The ethanol test - an indicator of fibrinemia.
Coagulation 3 (1971) 343
- (14) Göltner, E.,
Babenerd, J.: Das venöse Gefäßsystem in der Schwangerschaft.
Der Gynäkologe 2 (1970) 163
- (15) Graeff, H.,
V. Hugo, R.: Fibrinogen derivatives in a case of abruptio placentae.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120 (1974) 335
- (16) Graeff, H.,
v. Hugo, R.: Identification of fibrinogen derivatives in plasma samples.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 27 (1972) 610
- (17) Graeff, H.,
v. Hugo, R.,
Hafter, R.: In vivo formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma.
Thrombos. Res. 3 (1973) 465
- (18) Graeff, H.,
v. Hugo, R.,
Kuhn, W.,
Scholz, H.,
Ernst, H.,
Gastroph, R.: Fibrinogen derivatives with a higher molecular weight than that of the parent molecule in cord vein plasma of newborns. I. Identification in single plasma samples.
Klin. Wschr. 51 (1973) 695
- (19) Graeff, H.,
v. Hugo, R.,
Marx, R.: Nachweis von Fibrinogenderivaten mit einem höheren Molekulargewicht als dem des Fibrinogens bei Patienten mit Herzinfarkt. In: Herzinfarkt und Blutgerinnung. XV. Hamburger Symposium über Blutgerinnung. 2. - 3. Juni 1972. S. 147 (F. K. Schattauer-Stuttgart 1972)

- (20) Graeff, H.,
Wiedemann, A.,
v. Hugo, R.,
Hafter, R.:

Amount and distribution pattern of soluble fibrin monomer complexes during the early puerperium. Am. J. Obstet. Gynecol., in press, (1975)
- (21) Graeff, H.,
Wreschniok, K.,
v. Hugo, R.:

Identification of fibrin and/or FDP in plasma samples by PAA-Gel-Immuno-Elektrophoresis and intra gel immunoprecipitation. Abstract Vol. II. Int. Congr. on thrombosis and haemostasis. Oslo 12. - 16. July (1971) 150
- (22) Hafter, R.,
Graeff, H.:

Molekular aspects of defibrination in a case of "dead fetus syndrome". Thrombos. Res. 7 (1975) 391
- (23) Harder, A.J.,
Straub, P.W.:

In vitro and in vivo induction of cryofibrinogen and "Paracoagulation" by Reptilase. Thrombos. Diathes. haemorrh. 2 (1972) 337
- (24) Harker, L.A.,
Slichter, S.J.:

Arterial and venous thromboembolism: Kinetic characterization and evaluation of therapy. Thrombos. Diathes. haemorrh. 31 (1974) 188
- (25) Heene, D.L.:

Diagnostik der Gerinnungsstörungen im Schock. In Zimmermann und Staib: Schock, Stoffwechselveränderungen und Therapie. Int. Symp. Freiburg Okt./Nov. 1969, S. 413 - 428 (F. K. Schattauer - Stuttgart 1969)
- (26) v. Hugo, R.,
Graeff, H.:

Fibrinogen derivatives with a higher molecular weight than that of the parent molecule in cord vein plasma of newborns. II.: Further characterization from pooled plasma. Klin. Wschr. 51 (1973) 699
- (27) v. Hugo, R.,
Graeff, H.:

Formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma. Thrombos. Res. 3 (1973) 183

- (28) Hörmann, H.,
Gollwitzer, R.: Analytische Untersuchungen über
Rinderfibrinogen und -fibrin.
Z. Physiolog. Chem. 346 (1966) 21
- (29) Hörmann, H.,
Ströder, W.: Investigation on the cold-insoluble
fraction of fibrinogen. In: Abstract
volume, IV. Int. Congr. on Thrombosis
and Haemostasis, Vienna, June 19 - 22,
(1973) 386
- (30) Kierulf, P.,
Godal, H.C.: Fibrinemia in medical patients screen-
ed by the ethanol test.
Acta Med. Scand. 190 (1971) 185
- (31) Kierulf, P.: Studies on soluble fibrin in plasma.
IV: Isolation and characterization of
the clottable proteins obtained from
thrombin incubated plasma upon gelation
with ethanol. Thrombos. Res. 3 (1973)
613
- (32) Kitzmiller, J.L.,
Lang, J.E.,
Yelenosky, P.F.,
Lucas, W.E.: Hematologic assays in pre-eclampsia.
Am. J. Obstet. Gynecol. 118 (1974)
362
- (33) Kuhn, W.: Hämostase und Gestation. In: Marx und
Thies (Hrsg.): Sexualhormone und Blut-
gerinnung. S. 51 - 64 (F. K. Schatta-
uer - Stuttgart 1971)
- (34) Kuhn, W.,
Bröcker, G.,
Graeff, H.,
Bleyl, U.,
Frost, H.: Nachweis von Fibrinmonomeren im Na-
belvenenblut.
Klin. Wschr. 49 (1971) 106
- (35) Kuhn, W.,
Graeff, H.: Gerinnungsstörungen in der Geburts-
hilfe.
(Thieme - Stuttgart 1970)
- (36) Lasch, H.G.,
Roka, L.: Über den Bildungsmechanismus der Ge-
rinnungsfaktoren Prothrombin und
Faktor VII. Klin. Wschr. 32 (1954)
460

- (37) Lipinski, B.,
Worowski, K.: Detection of soluble fibrin monomer complexes in blood by means of protamine sulphate test. Thrombos. Diathes. haemorrh. 20 (1968) 44
- (38) Lipinsky, B.,
Wegrzynowicz, Z.,
Budzynki, A.Z.,
Kopec, M.,
Latallo, Z.S.,
Kowalski, E.: Soluble inclottable complexes formed in the presence of fibrinogen degradation products (FDP) during the fibrinogen-fibrin conversion and their potential significance in pathology. Thrombos. Diathes. haemorrh. 17 (1967) 60
- (39) Ludwig, H.: Thromboembolische Erkrankungen in der Schwangerschaft und unter der Geburt. Z. Geburtsh. Perinat. Bd. 176 (1972) 169
- (40) Niewiarowski, S.,
Gurewich, V.: Laboratory identification of intravascular coagulation. J. Lab. Clin. Med. 77 (1971) 665
- (41) Roy, E.,
Harkness, R.A.,
Kerr, M.G.: The concentration of östrogens in maternal peripheral blood during and after labour. J. Obstet. Gynaec. Bri. Cwlth. 70 (1963) 1034
- (42) Schander, K.,
Egli, H.: Veränderungen der Blutgerinnung und Fibrinolyse durch die Schwangerschaft. Der Gynäkologe 2 (1970) 158
- (43) Seligsohn, U.,
Rapaport, S.J.,
Kuefler, P.R.: Extra-adrenal effects of ACTH on fibrinogen synthesis. Am. J. Physiol. 224 (1973) 1172
- (44) Shainoff, J.R.,
Page, J.H.: Significance of cryoprofibrin in fibrinogen-fibrin conversion. J. exp. Med. 116 (1962) 687
- (45) Shaper, A.G.,
Macintosh, D.M.,
Evans, C.M.,
Kyobe, J.: Fibrinolysis and plasminogen levels in pregnancy and the puerperium. Lancet II (1965) 706

- (46) Shaper, A.G.,
Macintosh, D.M.,
Kyobe, J.: Fibrinolytic activity in pregnancy,
during parturition and in the puer-
perium.
Lancet II (1966) 874
- (47) Stamm, H.: Die geburtshilfliche und gynäkologi-
sche Embolienmortalität im Raume Zen-
traleuropa und Skandinavien.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 20 (1960)
675
- (48) Straughn, W.,
Wagner, R.H.: A simple method for preparing fibrino-
gen.
Thromb. Diath. haemorrh. 16 (1966)
198
- (49) Ströder, W.,
Hörmann, H.: The cold insoluble fibrinogen fraction
of bovine and human plasma.
Biochem. Biophys. Acta 351 (1974)
396
- (50) Strumia, M.M.: Haematocrit. Am
Am. J. Clin.Path. 24 (1954) 1016
- (51) Tafel, K.V.: Hyperkoagulabilität bei gynäkologi-
schen Malignomen und ihre Beeinflus-
sung durch Dextran 60 (Macrodex^R).
Dissertation 1976

Lebenslauf

Am 29. 4. 1949 wurde ich als Sohn des prakt. Arztes Dr. Walter Schneeberger und seiner Frau Isolde in Hauzenberg im Landkreis Wegscheid geboren.

Ich besuchte 5 Jahre die Grundschule Hauzenberg und anschließend das Adalbert-Stifter-Gymnasium in Passau, an dem ich 1969 die Reifeprüfung ablegte.

Mein Universitätsstudium begann ich im Wintersemester 1969/70 als Student der Physik an der Universität München. Im Sommersemester 1970 wechselte ich an die medizinische Fakultät über, und legte im Frühjahr 1972 die ärztliche Vorprüfung ab.

